

NÖVÉNYI RÉSZEK ÁTDERÍTÉSE ÉS BEÁGYAZÁSA MŰGYANTÁK SEGÍTSÉGÉVEL

VÁGÁS ENDRE

Az átderített növényi készítmények napjainkig csupán méreteikben — vastagságukban — tértek el a mikroszkópi készítményektől. A paralell üveglemezek által határolt keskeny, 2—3 millimétert meg nem haladó tér, csupán vékony növényrészek — főként levelek — feldolgozását tette lehetővé. Az általában használt elzáróanyagok sajátságai ugyanis az üveglemezek közötti távolságnak meglehetősen szűk határt szabtak. Jelentősebb tér kitöltésére, vastagabb réteg képzésére sem a víztartalmú, sem pedig a gyantaszerű mikroszkópi elzáróanyagok nem alkalmasak.

Az anatómiai preparálástechnika erős fénytörésű folyadékok átderítő hatásán alapuló módszerei (*Spalteholz* eljárása és annak módosításai) a botanikában nem honosodtak meg, noha ezek az eljárások a jelentősebb méretű dudvás növényrészek átderítésének járható útját képezték. A botanika azonban a makroszkópos készítmények helyett inkább mikroszkópos vizsgálatra is alkalmas preparátumokat igényelt és ezért nem követte a folyadékos preparálási utat.

A növényrészek átderítés előtti színezésére főként a postvitalis festés különféle módszereit alkalmazzák; a vitalis festés eljárásaihoz — a szó szorosán vett értelmében — ritkán folyamodnak.

A műgyantás átderítés céljára a következő műgyantaféleségeket alkalmaztuk:

Crystic 189. Polyester típusú műgyanta. Scott—Bader Co. England.

2. Lignocoll. Karbamid-formaldehyd műgyanta. Kőbányai Műanyaggyár.

3. Resonal Karbamid-formaldehyd műgyanta. Chroma—Gesellschaft.

4. Polystirol. Buna-Werke (DDR).

A növények edénynyaláb-rendszerének átderítés, ill. beágyazás előtti színezésére főként *Buchholz* (1921) tripankék, ill. trypanvörös festőeljárását alkalmaztuk. A két festék közül főként a trypankéket használtuk 1⁰/₁₀₀-es oldatában. A híg oldatban alkalmazott trypankék ugyanis a növényi szövetek számára nem toxikus és több napos, sőt több hetes hatása sem káros.

Kísérleti növényekként kifejlett *Impatiens holsti* és kukorica növényeket alkalmaztunk, melyek gyökereit víz alatt levágtuk, majd a metszéspontjukat a festékoldat alatt megújítottuk.

A trypankék és trypanvörös oldat — amint azt *Buchholz* megállapította — áthalad a tracheidák végfalain, valamint nehézség nélkül áthatol az egyszikűek nodusain is. A festődés kizárólag az edénynyalábokra korlátozódik.

A vitalisan nem festődő — nem funkcionáló edénynyalábok postvitalis kontrasztfestéssel (safranin) mutathatók ki. Alkalmazható az edénynyaláb-rendszer teljes egészének darabfestéssel történő postvitalis megszínezése is. A festés ebben az esetben azonban nem korlátozható kizárólag az edénynyalábokra. Hátrány az is, hogy — miután a festékoldatok behatolása főként a metszéspontok felől megy végbe — a színezés, valamint a festés differenciálása, különösen hosszabb szárdarabokon rendszerint nem egyenletes.

A vitalisan festett növényrészeket 10%-os formalin oldattal rögzítettük.

1.

A polyester típusú műgyanták vastagabb növényrészek átderítésére és blokk-beágyazására alkalmasak.

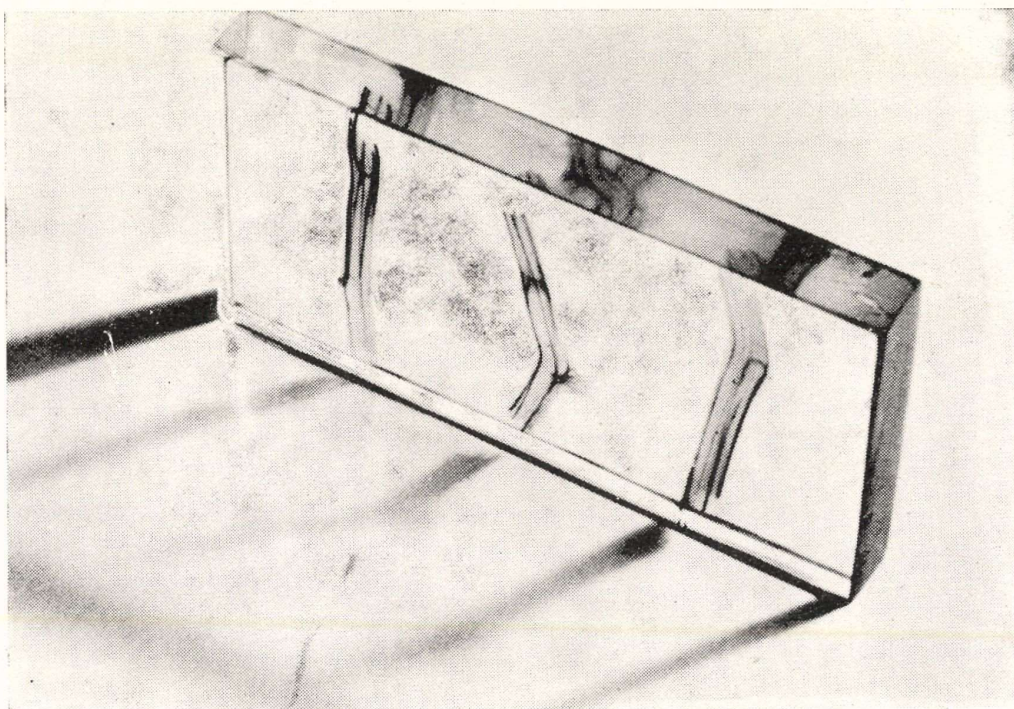
A formalinnal rögzített növényrészeket alkohollal fokozatosan víztelenítettük, egyben a chlorophyll tartalmukat kivontuk. A víztelenítést acetonnal fejeztük be, majd a növényrészeket Crystic 189 polyester műgyanta monomerjének acetonos oldataival itattuk át; fokozatosan töményebb oldatokat alkalmazva. Végül aceton-mentes műgyantával való átítatás után az anyag a gyári előírások és katalyzátor-adagolás szerint beágyazható a műgyantába. A beágyazás szolgáltatja nyers műgyanta tömbök felületét polyrozni szükséges.

A polyester műgyanta erős fénytörése lehetővé teszi, hogy vastagabb szárrészeket is átderíthessünk. A beágyazott részek sztereomikroszkópos vizsgálata, fényképezése — jól átderített növényrészeken — akadálytalan. A műgyanta behatolásának gyorsítása — az átítatás tökéletessé tétele érdekében — az acetonos műgyanta oldatok alkalmazásától kezdve légszivattyút használhatunk.

A víztelenítés és a különféle töménységű intermediumokkal való kezelés időtartama esetleges; a növényrész méretétől, víztartalmától, átítathatóságától és átderíthetőségétől (fénytörési viszonyok) függ. A szárrészek epidermisének esetleges előzetes eltávolítása az átítathatóságot javítja és gyorsítja. A polyester műgyantás átítatás és beágyazás általunk észlelt zsugorító hatása 15—20%.

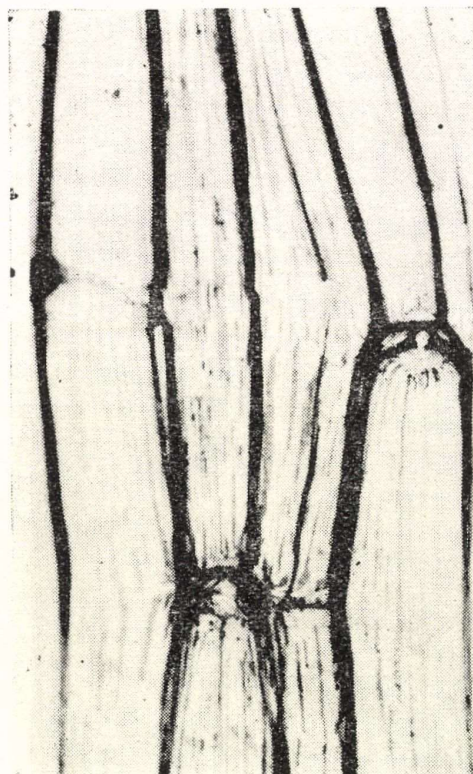
2—3.

A Lignocoll és más karbamid-formaldehid típusú műgyanták Resonal „Chroma”, Celodal „Bayer” erős fénytörőképeségük ($n_D = 1,53$) következtében szintén felhasználhatók növényi részek átderítésére.



1. *Impatiens holsti*: szárrészek
Trypankék vitalis edénnyalábfestés.
Blockbeágyazás polyester műgyantába.
A természetes méret felére kicsinyítve.

2. *Impatiens holsti*: szárrész hengerpalástszerűen
kiterített felülete
Trypankék vitalis edénnyalábfestés.
Karbamid-formaldehid műgyantába (lignocoll)
ágyazott lemezkészítmény.
Nagyítás: 4x.



Ezeknek a műgyantáknak előnye az, hogy a preparátumok anyagát nem kell teljesen vízteleníteni, csupán — a rögzítés és a chlorophyll ronsolása után — a gyanta lépcsőzetesen töményedő formalinos oldataival kell az anyagot átítatni. 1—1 lépcső alkalmazási ideje legalább 24—48 óra. A szárrészek epidermisének eltávolítása (óvatos lenyúzása) a műgyanta gyorsabb és tökéletesebb behatolása érdekében ennél az eljárásnál is előnyös, úgyszintén a légszivattyú alkalmazása is.

A tömény karbamid-formaldehyd műgyantával (Lignocoll, Celodal) végzett alapos (több napos) átderítés után a műgyanta ammonium-chlorid katalizátor (a gyanta súlyára számított 2—3% katalizátor) segítségével szilárdítható meg. A katalizátort formalinban oldva adjuk — alapos keverés mellett — a műgyantához. A műgyanta megmerevése (gumiszerű állapotig) 6—12 óra alatt megy végbe, teljes megszilárdulása 1—2 hetet vesz igénybe. A műgyanta gyorsabb megmerevítése a légbuborékok gátolt távozása miatt előnytelen. A Resonal műgyanta alkalmazásánál a gyár beágyazási formuláját [8] követtük. A beágyazás szolgáltatta nyers műgyanta tömbök felszínét polyrozni szükséges.

Karbamid-formaldehyd műgyantákból — tapasztalataink szerint 1—2 cm-nél vastagabb blokkpreparátumokat nem célszerű készíteni, a szélességi és magassági méretek nem ennyire kötöttek, mert a műgyanta polykondenzációja vastagabb tömbök esetében lassan és tökéletlenül megy végbe. A polykondenzáció gátolt volta repedések kialakulásához, vagy a blokk deformálódásához vezethet. A karbamid-formaldehyd műgyantákból tehát célszerűen ún. lemezkészítményeket készíthetünk.

4.

Az átderített készítmények üveglemezek közé zárása esetén elzáróanyagul polystyrol műgyantát alkalmaztunk, a műgyanta erős fénytörőképessége ($n_D = 1,5350 - 1,6243$) és nagy viszkozitása miatt. A polystyrol oldatok gyors megszilárdulása és viszkozitása miatt ugyanis vastagabb lemezköz kitöltésére is alkalmasak. A műgyantát a növényrészek tökéletes víztelenítése és benzolos derítése után a következő összetételű oldatban alkalmaztuk:

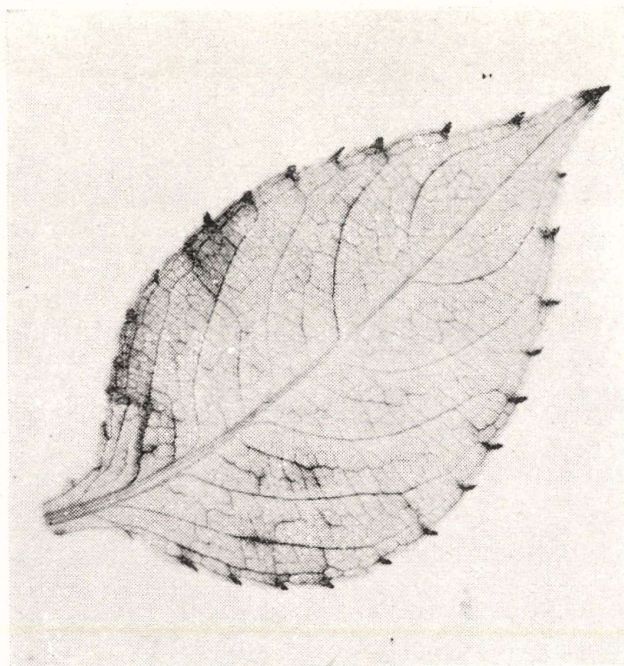
Polystyrol (vízfehér):	20 g
Benzol:	100 g
Dibutylphtalat:	10—15 g

A megadott keverék kizárólag üveglemezek közé zárt készítmények állandósítására alkalmas, blokkbeágyazás céljára nem.

Köszönetnyilvánítás:

Köszönetet mondunk a Kőbányai Műanyaggyárnak (Budapest), a Lignocoll és a Chroma-Gesellschaft-nak (Stuttgart-Untertürkheim) a Resonal műgyanták szíves rendelkezésre bocsátásáért.

3. *Impatiens holsti*. levél
Trypankék vitalis
edénnyalábfestés.
Uveglemezes készítmény;
Elzáróanyag: polystyrol.
Nagyítás: 4x.



4. *Impatiens holsti*: levélrészlet
A 3. kép egy részlete hydatodával;
80x mikroszkópos nagyításban.



Összefoglalás

A napjainkban rendelkezésre álló számos műgyantaféleség lehetővé teszi, hogy aránylag vastag, dudvás növényrészeket is átderíthessünk és a korábbi üveglemezes megoldást mellőzve műgyanta tömbökbe ágyazzuk azokat. A blokkbeágyazás céljára polyester műgyantákat (Cristic 189. Scott—Bader), valamint karbamid-formaldehyd műgyantát (Lignocoll—Kőbányai Műanyaggyár, Resonal „Chroma”, Celodal „Bayer”) használtunk.

Az üveglemezes készítményeinkhez polystyrol oldatot alkalmaztunk elzáróanyagul. Az edénynyaláb rendszer színezését főként *Buchholz* vitális trypánkék festőmódszerével végeztük. Postvitalis színezőeljárásokhoz ritkábban folyamodtunk.

Készítményeinket makroszkópos és (sztereo-) mikroszkópos vizsgálatra (fényképezésre) egyaránt alkalmasnak találtuk.

Preparátumaink felhasználhatóak arra is, hogy segítségükkel makroszkópos eszközökkel közelítsük meg a mikroszkópos növényi szerkezetek demonstrálását, azaz a makroszkópos és mikroszkópos szerkezetek segítségükkel szoros kapcsolatban oktathatók.

AUFHELLUNG UND EINBETTUNG VON PFLANZENTEILEN MIT HILFE VON KUNSTHARZEN.

E. VÁGÁS:

ZUSAMMENFASSUNG

Die heutzutage verfügbaren zahlreichen Kunstharze ermöglichen auch die Aufhellung relativ dicker, krautiger Pflanzenteile und ihre Einbettung in Kunstharzblöcke anstatt der früheren Glasplattenmethode. Wir haben zur Blockeinbettung Polyester-Kunstharze (Gristic 189, Scott-Bader) sowie Karbamid-Formaldehyd-Kunstharz (Lignocoll, Kőbányaer Kunststoff-Fabrik, Resonal „Chroma”, Celodal „Bayer”) benutzt.

Zu unseren Glasplattenpräparaten verwendeten wir Polystyrollösung als Verschlussmittel. Die Tingierung des Gefäßbündelsystems geschah vorwiegend mit der *Buchholz*'schen vitalen Trypanblau-Färbemethode. Postvitaler Färbeverfahren haben wir uns seltener bedient.

Unsere Präparate haben sich zur makroskopischen und (Stereo-) mikroskopischen Untersuchung (zum Photographieren) gleichermassen als geeignet erwiesen. Mit ihrer Hilfe kann die Demonstrierung mikroskopischer pflanzlicher Strukturen an Hand makroskopischer Behelfe in Angriff genommen werden das heisst makroskopische und mikroskopische Strukturen können im Unterricht eng beieinander behandelt werden.

TAFELERKLÄRUNG

1. *Impatiens holsti*: Stengelteile. Vitale Leitündelfärbung durch Trypanblau. Blockeinbetten mit Hilfe von Polyester-Kunstharz. Vergr. 1:2.
2. *Impatiens holsti*: Stengelteil, zylindermantelartig ausgebreitet. Vitale Leitbündelfärbung durch Trypanblau, in Karbamid — Formaldehyd — Kunstharz (Lignocoll) eingebettetes Plattenpräparat. Vergr. 4:1.

3. *Impatiens holsti*: Blatt. Vitale Leitbündelfärbung durch Trypanblau. Glasplatten — Präparat Einschlussmittel: Polystyrol. Vergr. 4:1.
4. *Impatiens holsti*: Blatteil, Ein Teil des 3. Präparates, mit Hydatode am Rand des Blattes. Vergr. 80:1.

IRODALOM

- [1] Arnot H. J.: Leaf clearings. Turttox News, 37. 1959; 192—194.
- [2] Berninger, H.: Eine verbesserte Methode der Einbettung Anatomischer Präparate mit Celodal. Zeitschr. Wiss. Mikr. 61 (1962.), 44—47.
- [3] Bloom, G.; Engstrom, H.: Resin polyesters polymerized in the cold, for reproduction of anatomical preparations. Nord. Med. 64. (1951.), 1573—1575.
- [4] Bollow, H.: Das Einbetten in Kunststoffe, Pflanzenschutz. 6. (1954.) 55—59.
- [5] Böhm, E., Kisser, J.: Eine neue Methode zur Darstellung der Xylemstränge in krautigen Pflanzenteilen. Mikroskopie, 16 (1961.), 133—14.
- [6] Buchholz, M.: Über die Wasserleitungsbahnen in den interkalaren Wachstumszonen monokotylar Sprosse. Flora, 114 (1920.), 120—186.
- [7] Camp, W. H., Liming, F. G.: The use of basic fuchsin in plant anatomy Stain Technology, 7 (1932.), 91.
- [8] Chroma—Gesellschaft: Resonal, Arbeitsvorschrift zum Einschluss Biologischer Präparate. Stuttgart, 1965.
- [9] Drahn Fr., Ein neues Druchtränkungsmittel für histologische und anatomische Objekte. Berl. tierärztl. Wochenschr. 38 (1912.), 97—100.
- [10] Eichner, D., Ahlers, B.: Zur Verwendung von Kunstharzen in der Anat. Museumstechnik. Anat. Anz. 103 (1956.), 265—268.
- [11] Frey—Wisslyng A.: Die Pflanzliche Zellwand, Berlin—Göttingen—Heidelberg 1959.
- [12] Greco J. P.: Refractive indices of currently used mounting media. Stain Technology, 25 (1950.), 11—12.
- [13] Galavazi, G.: Clearing and staining plant material in toto with phloroglucinol — Hcl in methyl benzoate for projection photography and subsequent serial sectioning. Stain Techn. 1956. 40, 1—5.
- [14] Kovács Gy.: Átlátszó anatómiai készítmények. Állatorvosi Lapok, 56 (1933.), 14—19, 27—29.
- [15] Lenz W.: Bemerkungen über die Aufhellung und über ein neues mikroskopisches Aufhellungsmittel. Ztschr. wiss. Mikr. 11 (1894), 16—21.
- [16] Lilie R. D., Zirkle G., Dempsey E. W. and Greco J. P.: Final Report of the committee on histologic mounting media. Stain Technology, 28 (1953.), 57—80.
- [17] Ljetnik S.: Eine Variation der Spalteholz'schen Methode. Anat. Anz. 59 (1925.) 201—202.
- [18] Rathfelder O.: Aufhellungsversuche an massiven Pflanzengewebe. Mikrokosmos, 44 (1954.), 33—35.
- [19] Scott Boder Co. Ltd. Polyester Division: Technical Leaflet No. 99. Crystic. 189.
- [20] Spalteholz, W.: Handbuch d. Biol. Arbeitsmeth. 1922.
- [21] Stebbings G. L.: A bleaching and clearing method for Plant tissues. Science 87 (1938.), 21—22.
- [21] Stebbings G. L.: A bleaching and clearing method for plant tissues. Science tungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen, Jena 1891.
- [23] Vágás E., Csanády G.: Eine neue Methode zur Herstellung durchsichtiger anatomischer Präparate. Mikroskopie, 13 (1958.), 113—114.
- [24] Vágás E.: A kanadabalzam és a fedőlemez pótlása polystyrol segítségével. Kísérletes Orvostud. 12. (1960.), 658—659.
- [25] Vágás, E., Csanády G., Maác G. J., Die Bedeutung der künstlichen Harze in der biologischen Präparationstechnik. Z. med. Labortechnik. 2 (1961.), 303—314.
- [26] Zymny, E.: Neue Wege zur Konservierung biolog. Objekte. Pharm. Ztg. 42 (1955.), 1915.

